

DAS VORKOMMEN VON ANTIKÖRPERN  
GEGEN DAS EPSTEIN-BARR VIRUS  
BEI ERKRANKUNGEN DES  
LYMPHORETIKULÄREN SYSTEMS

REINHARD PLÖSSL

1973  
—



Dipl.-Kfm. A. Koch  
(Kurfürstendruck)  
8 München 23  
Clemensstraße 27  
Telefon 342149





Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554601\\_0060](https://archive.org/details/IA41554601_0060)

Aus der Kinderklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. Klaus Betke

„ DAS VORKOMMEN VON ANTIKÖRPERN GEGEN  
DAS EPSTEIN-BARR VIRUS BEI ERKRANKUNGEN  
DES LYMPHORETIKULÄREN SYSTEMS

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin  
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät  
der Ludwig-Maximilian-Universität zu München  
vorgelegt von

Reinhard Plöchl

aus

Leipzig

im Jahre

1973

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Universität München

|                             |                    |
|-----------------------------|--------------------|
| Berichterstatter:           | Prof. Dr. O. Goetz |
| Mitberichterstatter:        | Prof. Dr. K. Betke |
| Dekan:                      | Prof. Dr. W. Spann |
| Tag der mündlichen Prüfung: | 6.2.1973           |



# DAS VORKOMMEN VON ANTIKÖRPERN GEGEN DAS EPSTEIN-BARR VIRUS BEI ERKRANKUNGEN DES LYMPHORETIKULÄREN SYSTEMS

## Einleitung:

Im Jahre 1950 wurde von Denis Burkitt zum ersten Mal ein bei afrikanischen Kindern auftretendes, malignes Lymphom beschrieben. Nach seinem Entdecker wird es heute in der Literatur als "Burkitt Lymphom" bezeichnet. Es handelt sich um ein Lymphosarkom, welches vor allem in der regio maxillaris und mandibularis auftritt. Zu 35 % werden die Tumore aber auch abdominell manifest. So in den Ovarien, in paraaortalen Lymphknoten und der Leber. Histologisch zeigen die Tumore ein charakteristisches Bild. Zwischen unreifen Lymphocyten erkennt man zahlreiche große, z.T. vakuolisierte Histiocyten. Diese Histiocyten sind mit Lymphocyten oder deren Kernen oder pyknotischen Zellresten beladen. Diese Zellen rufen den Eindruck eines Sternhimmelbildes hervor (12). Der Tumor besitzt eine charakteristische Altersverteilung (1). Das Burkitt-Lymphom tritt kaum vor dem zweiten oder nach dem zwanzigsten Lebensjahr auf. Seine Häufigkeit nimmt bis zum siebten Lebensjahr zu. Sehr auffällig ist sein Auftreten in bestimmten Klimazonen, wodurch der Tumor erstmals auffiel. Die meisten Fälle wurden zunächst in Afrika zwischen dem zwanzigsten Grad nördlicher und südlicher Breite beobachtet. Weitere beschränkende Faktoren sind Temperatur, Höhe und Niederschlagsmenge (2). Heute ist bekannt, daß die Erkrankung unter analogen klimatischen Bedingungen auch in Neuguinea auftritt (3). Auf Grund der Beobachtung, daß die Verbreitung des Tumors weitgehend der Verbreitung der Malaria entspricht, vermuteten Burkitt und Davis 1962, daß der Tumor durch ein Virus als wichtigen Cofaktor ausgelöst, und dieses Virus durch Moskitos übertragen wird. (4) (5). Mittlerweile sind jedoch mehrere gesicherte Fälle von Burkitt-Lymphom in gemäßigtem Klima aufgetreten. So in Deutschland (6) (13), USA (7) und in Frankreich (8). Eine Übertragung durch Moskitos oder andere tropische Insekten ist in diesen Fall ausgeschlossen. 1964 gelang es Epstein und Barr, ein bis dahin unbekanntes inzwischen nach ihnen benanntes Virus in einer Burkitt

Tumorzellkultur nachzuweisen (9). Dieses Virus gehört morphologisch der Herpes Gruppe an. 1966 gelang es G. und W. Henle, Antikörper gegen das EB-Virus mit Hilfe eines Immunfluoreszenztests nachzuweisen (10). Mit Hilfe dieses relativ einfach zu handhabenden Tests wurden weltweite Untersuchungen über die Verbreitung des EB-Virus angestellt. An dieser Stelle sei auf die Arbeit von H. Strasser (11) hingewiesen, welche die Durchseuchung der deutschen Bevölkerung mit dem EB-Virus beschreibt. In weitgehender Übereinstimmung mit ähnlicher Arbeiten aus der Schweiz, Texas, England, Schweden und Pennsylvania zeigt sie eine signifikante Abhängigkeit der Normaldurchseuchung in Relation zum Lebensalter der Testpersonen.

Da nach dieser Untersuchung bis zu 70 % der Erwachsenen Antikörper gegen das EB-Virus besitzen, ohne klinisch auffällig zu sein, kann das EB-Virus nicht als alleiniger Faktor für die Entstehung des Burkitt-Lymphoms verantwortlich gemacht werden. Gesicherte Burkitt-Tumore haben jedoch zu 100 % nachweisbare Antikörper gegen das EB-Virus, meist mit extrem hohen Titern. In unserem Labor wurden von Herrn H. Strasser bei den klinisch gesunden Testpersonen meist Antikörper von 1:20 (Serumverdünnung) gefunden. Als weiterer Befund ergab sich bei der Untersuchung von Seren bei Tumoren des RES extrem hohe Titer. Dieser Befund war Anlaß zu dieser Arbeit, welche sich mit der Bestimmung von Antikörpern gegen das EB-Virus bei Tumoren des retikuloendothelialen Systems sowie bei Leukämien und sonstigen Tumoren beschäftigt.

#### Material und Methodik

Es wurde die leicht modifizierte Methode der indirekten Immunfluoreszenz von Henle und Henle (1966) benutzt (10).

Zellen: Die von uns benutzten EBV-tragenden Zellen sind in der Literatur als EB<sub>3</sub> Stamm bekannt. Sie wurden uns freundlicherweise von Herrn Prof. Henle (ph) zur Verfügung gestellt. Die Zellen wurden in 100 ml Steilbrustflaschen bei 37 Grad Celsius gezüchtet. Die Nährflüssigkeit setzte sich folgendermaßen zusammen:

80 % Eagle's Basal Medium  
10 % fetales Kälberserum  
10 %  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung (5,6 %)g)  
100  $\mu$ g/ml Streptomycin  
100 I.E.:ml Penicillin

#### Fütterung:

Einmal wöchentlich wurden die Kulturen halbiert und das fehlende Volumen durch frische Nährlösung ersetzt.

Zellausstriche: Zellen, die zur Färbung verwendet werden sollten, wurden drei bis vier Tage in argininfreiem Medium gehalten, um die Zahl der virustragenden Zellen zu erhöhen (16). Die Zellsuspension-Burkitt Tumorzellen schwimmen frei im Nährmedium (17) - wurde bei 1800 x g zwanzig Minuten lang zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit bis auf einige Tropfen weggeschüttet. In diesen wurden die zurückbleibenden Zellen aufgeschwemmt und mit Hilfe einer Öse auf Mikroobjektträger, (7 x 30 mm) große Glasplättchen, ausgestrichen. Die Ausstriche wurden bei Raumtemperatur luftgetrocknet und anschließend zehn Minuten lang in Azeton fixiert. Diese Präparate wurden bei -20 Grad Celsius bis zur Färbung aufgehoben.

#### Die indirekte Fluoreszenzfärbung:

Auf die beschichteten Plättchen wurde die zu untersuchende Serumverdünnung aufgetragen. Wenn nichts anderes vermerkt ist, wurde das Serum 1:10 in Dulbecco's Phosphate buffered saline (PBS) (18) verdünnt.

Die mit Serum beladenen Glasplättchen wurden in einer feuchten Kammer für eine halbe Stunde bei 37 Grad Celsius inkubiert, um eine Antigen-Antikörperreaktion zwischen dem intrazellulären EBV und eventuell im Serum vorhandenen Antikörpern zu ermöglichen. Anschließend wurden die Standardobjektträger in eine mit PBS gefüllte Küvetten gehängt. Mit Hilfe eines Magnetrührers wurden die Zellanstriche nun eine halbe Stunde lang gewaschen, um das gesamte menschliche Serum zu entfernen, außer dem eventuell zustande gekommenen Antigen-Antikörper Komplex. Anschließend wurden

die Zellanstriche mit Antikörpern beladen, die gegen menschliches Gammaglobulin gerichtet sind, vom Pferd stammten und mit dem Fluoreszenzfarbstoff Fluoreszeinisothiozyanat (FITC) konjugiert waren. Wir bezogen dieses FITC - conjugated antihuman gamma globulin (horse) von den "Flow Laboratories", Irvine, Scotland. Die Färbeintensität des FITC-konjugats ist von Lieferung zu Lieferung Schwankungen unterworfen. Um die Ergebnisse aus verschiedenen Färbungen objektiv vergleichen zu können, wurde vor jeder Serie die notwendige Konjugatverdünnung neu bestimmt. Das zu benutzende Konjugat wurde in einer Verdünnungsreihe von 1:10 bis 1:160 mit Seren getestet, deren Färbeintensität aus früheren Tests bekannt war. Die jeweils in Färbeintensität entsprechende Konjugatsverdünnung wurde im Folgenden benutzt.

Die Glasplättchen wurden dann erneut inkubiert und gewaschen und zum Abschluß eine Minute in destilliertes Wasser getaucht. Schließlich wurden die Glasplättchen mit der Zellsseite nach unten auf neue Objektträger in ein Gemisch aus drei Teilen PBS und einem Teil Glycerin eingebettet. Die Präparate wurden mit einem Mikroskop der Firma Wild Heersbrugg Typ M 20 ausgewertet. Als Lichtquelle diente eine Quarziodglühlampe 12 V/100 W. Als Filter wurden verwendet:

FITC Blaulicht-Sperrfilter

FITC Blaulicht Fluoreszenzerregerfilter

Rotdämpfungsfilter BG 23

Positive Präparate zeigten bei 2 - 8 % der vorhandenen Zellen ein helles, brillantes, "apfelgrünes" Fluoreszieren. Bei jeder Färbung wurden ein bekannt positives und ein bekannt negatives Serum, sowie ein nur mit Puffer beladener Zellausstrich als Kontrollen mitgeführt.

Seren: Die verwendeten Seren stammen von Patienten der Universitätskinderklinik, der 1. Medizinischen Klinik der Universität München, des Klinikums Rechts der Isar und des Krankenhauses München Schwabing. An dieser Stelle möchte ich besonders Frau Dr. Burger, Krh. Mü-Schwabing und Herrn Dozent F. Lampert für

die Bereitstellung von Patientenserum danken. Alle Seren wurden bis zu ihrer Verwendung bei  $-20^{\circ}$  Grad Celsius gelagert.

### Normaldurchseuchung

Um die Ergebnisse der Untersuchungen des Antikörpertiters gegen das EB-Virus bei Tumoren des ERS bewerten und diskutieren zu können, ist die Kenntnis der Normaldurchseuchung der Bevölkerung notwendig.

In unserem Labor wurde von H. Strasser (11) an Hand von 403 Probandenserum der gesunden Bevölkerung (d.h. keiner der Spender litt ärztlich bekannt an einer der in folgender Tabelle genannten Krankheiten) eine Normaldurchseuchungskurve erstellt.

Von den insgesamt 403 untersuchten Seren waren 191, das sind 47 %, positiv. Innerhalb der ersten 6 Lebensmonate weisen 5 % der Kinder Antikörper gegen das EB-Virus auf. Diese Antikörper sind zum diaplazentar Übertragene Antikörper der Mütter. Die Höhe von 50 % entspricht der Altersgruppe zwischen 20 und 40 Jahren.

Bei 6 - 12 Monate alten Kindern fanden sich nur noch 10 % Antikörper, die mütterliche Antikörper sind. Zwischen 12 Monaten und 6 Jahren sinkt die natürliche Durchseuchung auf 50 %. Ab diesem Alter steigen die positiven Befunde kontinuierlich an. Die Durchseuchung liegt zwischen 50 und 60 Jahren 77 %.

Tabelle 1 (nach Strasser)

| Alter       | Anzahl | -   | +  | ++  | +++ | % positiv |
|-------------|--------|-----|----|-----|-----|-----------|
| 0-5 Monate  | 60     | 30  | 13 | 13  | 4   | 50        |
| 6-12 Monate | 38     | 34  | 2  | 1   | 1   | 10        |
| 1-4 Jahre   | 61     | 43  | 9  | 8   | 2   | 31        |
| 5-9 Jahre   | 43     | 27  | 5  | 9   | 2   | 37        |
| 10-19 Jahre | 31     | 15  | 6  | 7   | 2   | 50        |
| 20-49 Jahre | 101    | 50  | 28 | 33  | 8   | 57        |
| 50-69 Jahre | 48     | 11  | 0  | 29  | 8   | 77        |
|             | 403    | 210 |    | 191 | 28  | 47        |

Bei positivem Ausfall des Testes war die Brillanz und die Helligkeit der aufleuchtenden Zellen verschieden. Dem wurde Rechnung getragen. Ein deutliches, aber schwaches Fluoreszieren wurde mit "+" bezeichnet, ein starkes Fluoreszieren mit "++" und ausgesprochen helle, sehr kräftige Brillanz bekam die Bezeichnung "+++".

Die dreifach positiven Fälle wurden, soweit Serum vorhanden, austitriert. Sie wurden in aufsteigender Serumverdünnung 1:10, 1:20, 1:40 usw. erneut gefärbt. Der reziproke Wert derjenigen Verdünnung, bei der das Präparat noch eine schwache, aber deutliche Fluoreszenz erkennen ließ, wurde als Endtiter angenommen. Von den 27-dreifach positiven Seren wurden 20 austitriert.

Es ergab sich bei den mit "+++ bewerteteten Seren ein durchschnittlicher Endtiter von etwa 1:30. Nimmt man für die 171 nicht austitrierten Seren, welche die Bewertung "+" oder "++ erhalten hatten, einen durchschnittlichen Endtiter von 1:20 an, so liegt der durchschnittliche Titer aller mit positiv bewerteten Seren zwischen 1:20 und 1:30. Im folgenden werden Titer von 1:10 bis 1:40 als Zeichen einer länger zurückliegenden Infektion, Titer ab 1:40 als Zeichen einer akuten Auseinandersetzung mit dem Virus bezeichnet.

Diese Arbeit befaßt sich im folgenden mit der Suche nach Antikörpern gegen das EBV bei Patienten mit M. Hodgkin, Tumoren des Lymphoretikulären Systems, Lymphadenosen, Leukämien und sonstigen nicht dem RES angehörenden Tumoren. Um einen raschen Überblick zu gewähren, sei an der Anfang die Übersichtstabelle (2) gestellt.

ÜBERSICHTSTABELLE

TABELLE 2

| Diagnose               | Fälle | positiv<br>(21:40) | positiv | Mittlerer arryth.<br>pro Gesamtzahl | Über pro<br>positive Fälle |
|------------------------|-------|--------------------|---------|-------------------------------------|----------------------------|
| M. Hodgkin             | 26    | 25                 | 96      | 1:215                               | 1:220                      |
| Lympho-ect.<br>Tumoren | 26    | 15                 | 58      | 1:110                               | 1:105                      |
| Lymphadenosen          | 7     | 6                  | 89      | 1:1150                              | 1:1300                     |
| Leukämien              | 30    | 6                  | 20      | 1:35                                | 1:300                      |
| sonstige<br>Tumoren    | 17    | 6                  | 25      | 1:50                                | 1:170                      |
| davon<br>Neuroblastome | 7     | 4                  | 60      | 1:30                                | 1:180                      |

In der Übersichtstabelle (2) imponiert am meisten die hohe Rate von 96 % (25 von 26 untersuchten Fällen) positiven Ergebnissen bei Morbus Hodgkin. Der mittlere Titer von 1:215 führt mit einer Ausnahme (die Fälle von "Lymphadenose") deutlich die Tabelle an. Dieses Ergebnis scheint den Schluss auf eine wesentliche Mitbeteiligung des EBV bei der Genese des M. Hodgkin zuzulassen. Der extrem hohe mittlere Titer von 1:1150 bei dem unter "Lymphadenose" zusammengefaßten komplexen Krankheitsbildern kommt - bei einer statistischen Basis von nur 7 Fällen - auf Grund von 3 Fällen mit außerordentlich hohen Titern (1:2560 und 1:1280) zustande. Eine Deutung dieses aus dem Niveau der Tabelle 2 deutlich herausspringenden Wertes wurde im Folgenden versucht. Die in Tabelle 4 einzeln aufgeführten 26 Fälle von lymphoretikulären Tumoren fallen mit einem Anteil von 58 % positiven Fällen auf. Der stark erhöhte durchschnittliche Titer aller Fälle dieser Gruppe von 1:210 ist auf die 13 Fälle mit der Diagnose Retikulumzellsarkom zurückzuführen, welche in 7 Fällen einen zum Teil sehr hohen Antikörpertiter zeigen. Die Untergruppe mit der Diagnose "Lymphosarkom" der Tabelle 4 zeigt keine wesentlich erhöhten Titer. Die Fälle von Leukämie zeigen mit einer Rate von 20 % positiver Fälle bei einem mittleren Gesamtiter von 1:35 keine deutliche Erhöhung gegenüber der Norm. Hier scheint die Beteiligung des EBV-Virus unwahrscheinlich.

In der Gruppe "verschiedene Tumore" (einzelne Aufführung in Tabelle 7) imponiert die Untergruppe der Neuroblastome (7 Fälle) mit 60 % positiven Ergebnissen. Die restlichen Fälle sind unauffällig.

Im Folgenden sind die in Tabelle 2 zusammengefaßten Gruppen getrennt nach Diagnose, Alter des Patienten und Angabe des jeweiligen EBV-Antikörpertiters tabelliert.

In der darauffolgenden Diskussion wird versucht, die Ergebnisse im einzelnen zu interpretieren.

| Patient | Alter-Jahre | EB Antikörpertiter |
|---------|-------------|--------------------|
| M. T.   | 6           | 1 : 40             |
| R. W.   | 7           | 1 : 40             |
| L. G.   | 7           | 1 : 10             |
| E. G.   | 9           | 1 : 80             |
| M. M.   | 12          | 1 : 160            |
| J. G.   | 15          | 1 : 40             |
| G. H.   | 16          | 1 : 200            |
| J. H.   | 17          | 1 : 160            |
| M. A.   | 20          | 1 : 80             |
| S. W.   | 20          | 1 : 320            |
| K. R.   | 22          | 1 : 80             |
| W. G.   | 23          | 1 : 40             |
| H. P.   | 30          | 1 : 640            |
| G. M.   | 31          | 1 : 160            |
| O. P.   | 33          | 1 : 40             |
| F. L.   | 33          | 1 : 640            |
| M. L.   | 35          | 1 : 640            |
| F. G.   | 37          | 1 : 160            |
| H. M.   | 39          | 1 : 40             |
| D. K.   | 39          | 1 : 320            |
| S. K.   | 41          | 1 : 40             |
| F. A.   | 44          | 1 : 160            |
| T. F.   | 47          | 1 : 640            |
| F. J.   | 60          | 1 : 160            |
| E. L.   | 65          | 1 : 80             |
| J. S.   | 65          | 1 : 320            |

# Antikörper gegen das EB-Virus bei lymphoretikulären Tumoren

Tab. 10

| Name     | Differentialdiagnose | Alter | EB-Antikörpertiter |
|----------|----------------------|-------|--------------------|
| J. F.    | Retikulumzellsarkom  | 41    | 1 : 40             |
| H. H.    | "                    | 35    | 1 : 20             |
| S. M.    | "                    | 15    | 1 : 160            |
| O. M.    | "                    | 13    | 1 : 160            |
| U. H.    | "                    | 60    | 1 : 160            |
| P. C.    | "                    | 6     | 1 : 20             |
| T. K. H. | "                    | 17    | 1 : 20             |
| H. W.    | "                    | 60    | 1 : 20             |
| R. H.    | "                    | 6     | 1 : 20             |
| P. F.    | "                    | 10    | 1 : 20             |
| G. M.    | "                    | 6     | 1 : 20             |
| P. P.    | "                    | 11    | < 1 : 10           |
| M. H.    | "                    | 15    | < 1 : 10           |
| M. F.    | Lympho-ret.-Sarkom   | 48    | 1 : 20             |
| Z. M.    | "                    | 7     | < 1 : 10           |
| H. H.    | Lymphosarkom         | 8     | 1 : 40             |
| J. D.    | "                    | 11    | 1 : 10             |
| P. J.    | "                    | 7     | 1 : 40             |
| R. M.    | "                    | 10    | 1 : 20             |
| A. J.    | "                    | 61    | < 1 : 10           |
| S. G.    | "                    | 66    | < 1 : 10           |
| W. K.    | Schmincke-Tumor      | 38    | 1 : 640            |
| N. D.    | "                    | 14    | 1 : 160            |
| K. E.    | Brill-Symmers        | 74    | 1 : 320            |
| M. S.    | Ewing-Sarkom         | 13    | 1 : 80             |
| F. A.    | Histiocytose X       | 1     | 1 : 40             |

## Antikörper gegen das EB-Virus bei Leukämien - Tabelle 5

| Patient | Alter-Jahre | EBV-Antikörpertiter |
|---------|-------------|---------------------|
| K. P.   | 1           | > 1 : 10            |
| S. M.   | 2           | > 1 : 10            |
| Z. P.   | 2           | > 1 : 10            |
| S. V.   | 2           | > 1 : 10            |
| R. G.   | 2           | > 1 : 10            |
| S. E.   | 4           | 1 : 80              |
| H. H.   | 4           | 1 : 10              |
| Z. C.   | 5           | > 1 : 10            |
| R. A.   | 5           | > 1 : 10            |
| M. H.   | 5           | > 1 : 10            |
| G. G.   | 6           | 1 : 20              |
| T. S.   | 8           | 1 : 10              |
| K. W.   | 8           | > 1 : 10            |
| G. J.   | 8           | > 1 : 10            |
| J. H.   | 9           | 1 : 20              |
| H. R.   | 9           | 1 : 20              |
| B. M.   | 9           | 1 : 20              |
| L. K.   | 9           | > 1 : 10            |
| M. J.   | 9           | 1 : 10              |
| O. J.   | 14          | 1 : 20              |
| G. G.   | 18          | > 1 : 10            |
| Th. A.  | 20          | > 1 : 10            |
| F. G.   | 20          | > 1 : 10            |
| K. A.   | 22          | 1 : 320             |
| E. H.   | 29          | 1 : 320             |
| H. P.   | 32          | 1 : 40              |
| K. J.   | 41          | > 1 : 10            |
| R. M.   | 46          | 1 : 320             |
| H. G.   | 75          | > 1 : 10            |
| K. A.   | 78          | 1 : 80              |

EBV-Antikörper bei "Lymphadenosen" - Tabelle 6

| Patient | Diagnose             | Alter | EBV-Antikörpertiter |
|---------|----------------------|-------|---------------------|
| B. J.   | unklare Lymphadenose | 58    | 1 : 2560            |
| T. E.   | "                    | 50    | 1 : 2560            |
| R. A.   | Lymphadenose         | 78    | 1 : 1280            |
| B. A.   | Lymphadenose im      | 48    | 1 : 320             |
| H. J.   | Übergang             | 61    | 1 : 160             |
| S. J.   | zum                  | 69    | 1 : 160             |
| B. C.   | Lymphosarkom         | 58    | 1 : 20              |

EBV-Antikörper bei verschiedenen Tumoren - Tabelle 7

| Patient | Diagnose          | Alter | EBV-Antikörpertiter |
|---------|-------------------|-------|---------------------|
| H. P.   | Neuroblastom      | 2     | 1 : 320             |
| K. P.   | "                 | 2     | 1 : 80              |
| S. C.   | "                 | 3     | 1 : 320             |
| L. E.   | "                 | 3     | >1 : 10             |
| H. B.   | "                 | 6     | 1 : 20              |
| F. C.   | "                 | 9     | >1 : 10             |
| S. J.   | "                 | 13    | 1 : 80              |
| W. B.   | Hirntumor         | 1     | >1 : 10             |
| B. P.   | "                 | 5     | 1 : 20              |
| A. W.   | "                 | 12    | 1 : 80              |
| T. R.   | Wilms-Tumor       | 2     | >1 : 10             |
| W. M.   | "                 | 4     | >1 : 10             |
| P. R.   | Osteosarkom       | 11    | 1 : 160             |
| B. M.   | mult. Aneurismen  | 11    | >1 : 10             |
| K. S.   | Oberkiefersarkom  | 12    | >1 : 10             |
| R. M.   | Mediastinal-Tumor | 14    | 1 : 20              |
| D. C.   | Gefäßtumor        | 38    | 1 : 20              |

## Diskussion

Das auffälligste Ergebnis dieser Untersuchungsreihe zeigen wohl die Befunde bei Morbus Hodgkin. Bei einer Gesamtzahl von 26 untersuchten Seren wiesen 25 einen positiven Antikörpertiter auf. Die einzige Ausnahme ist ein 7-jähriger Junge, der keinen meßbaren Antikörpertiter gegen das EBV besitzt. Die Diagnose ist aber bei dieser Ausnahme ebenso wie bei allen anderen Fällen histologisch gesichert. Es wurden Seren aus allen drei Krankheitsstadien des M. Hodgkin untersucht. Von den 26 untersuchten Fällen waren 8 unbehandelt, 18 zum Teil chirurgisch, zum Teil strahlentherapeutisch vorbehandelt. Die höchsten gemessenen Titer lagen in 4 Fällen bei 1 : 640, in 5 Fällen bei 1:320, die niedrigsten in 7 Fällen bei 1:40. Dabei fällt auf, daß die höheren Titer bei Patienten über 30 Jahren, die niederen meist bei Patienten unter 20 Jahren gemessen wurden. Interessant ist bei der Übersichtstabelle der Vergleich zwischen dem mittleren Titer der EBV positiven Fälle mit dem mittleren Titer der insgesamt untersuchten Fälle. Der mittlere Titer aller Fälle von M. Hodgkin ist mit 1:215 praktisch identisch mit dem mittleren Titer der positiven Fälle (1:220). Beachtet man, daß nach Untersuchungen mit derselben Methode in unserem Labor bei der Normaldurchsuchung ein mittlerer Titer von 1:20 bei positiven Seren ermittelt wurde, so verdient der mittlere Titer von 1:220 bei M. Hodgkin Beachtung. Man kann daraus schließen, daß dem EBV bei der Genese des M. Hodgkin eine wichtige Rolle zumindest als Cofaktor zukommt.

Ein etwas anderes Bild ergibt sich bei den unter der Gruppe Tumore des PES zusammengefaßten Krankheitsbildern. (Tabelle 4). Von den insgesamt 26 Fällen dieser Gruppe entfallen 13 auf die Diagnose Retikulumzellsarkom. Von diesen 13 Fällen zeigen 7 einen auffälligen erhöhten Antikörpertiter gegen das EBV-Virus. Zwei Fälle mit einem Titer von 1:640 und einer von 1:320 stehen besonders hervor. Von den anderen 6 Fällen weisen 4 einen Titer von 1:20, 2 keinen meßbaren Titer auf. Dies entspräche einer weiter zurückliegenden Infektion im Rahmen der Normal-

durchscheidung. Da bei etwa 50 % der Fälle mit Retikuloendothelialsarkom zum Teil sehr hohe Antikörpertiter, bei den anderen 50 % geringere oder keine meßbar sind, ist eine eindeutige Beurteilung dieses Krankheitsbildes nicht möglich. Beachtlich ist zu mindest die Tatsache, daß bei der Hälfte der Fälle ein zum Teil sehr stark erhöhter Antikörpertiter auftritt. Die zweite Untergruppe der Tabelle Tumore des RES besteht aus 6 Fällen von Lymphosarkom, 2 Fällen von Lympho-retikulosarkom und einem Fall von Brill-Symmer'scher Erkrankung. Letzterer zeigt als einziger Fall mit einem Titer von 1:320 einen deutlich erhöhten Titer. Drei Fälle mit einem Titer von 1:40 und fünf Fälle mit einem Titer von 1:20 erlauben in dieser Gruppe die Aussage, daß wohl keine direkte Beziehung zum EBV besteht. Diese Befunde stehen im Widerspruch zu der Arbeit von W. M. Gallmaier (14), welcher bei der Untersuchung von 8 Fällen von Lymphosarkomen in 6 Fällen Titer von 1 : 80 und darüber fand. Für eine gültige Aussage ist aber sicher in beiden Fällen die Zahl der Untersuchten zu gering. In der dritten Untergruppe der Tabelle 4, in welcher verschiedene Differentialdiagnosen vereint sind, fällt ein Serum von einem Patienten mit Schmincke-Tumor bei einem Titer von 1:640 besonders auf. Läßt man die Unterteilung in Untergruppen außer acht, so sind bei 26 Fällen von Tumoren des RES immerhin 15 Fälle (58 %) positiv zu bewerten. Mit einem mittleren Titer aller Fälle von 1:110, und einem mittleren Titer der positiven Fälle von 1:195 besitzt diese Gruppe von Tumoren doch eine wesentlich höhere Korrelation zu EBV-Antikörpern als die Normalpersonen. Die Tatsache, daß die meisten der 26 Patienten zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits mehr oder weniger lange mit Cytostatika behandelt wurden, verwischt natürlich das Bild der eigentlichen Auseinandersetzung des immunologischen Systems mit dem EBV.

In enger Beziehung zur Gruppe Tumore des RES stehen die in einer eigenen Tabelle (5) unter dem Begriff "Lymphadenose" aufgeführten Fälle. Die beiden ersten Fälle dieser Gruppe weisen mit 1:2560 die höchsten Titer auf, die je in unserem Labor gefunden wurden. Die histologische Diagnose lautet in diesen beiden Fällen: "Unvollständige reaktive lymphatische

Hyperplasie mit plasmazellulärer und undifferenzierter retikulärer Komponente.

Bei den übrigen 5 Fällen lautet die Diagnose auf Lymphadenose in verschiedenen Übergangsstadien zu Lymphosarkom. Diese 7 Fälle stellen mit einem durchschnittlichen Titer von rund 1 : 1000 die höchsten Antikörperwerte gegen das EBV. Die Höhe der Titer wurde in einem zweiten Versuch mit frisch entnommenem Serum bestätigt. Die Tatsache, daß 4 der 7 Patienten zu jener Zeit auf derselben Station lagen, läßt eventuell den Verdacht auf eine frische Superinfektion im Rahmen des Hospitalismus aufkommen. Die extrem hohen Titer wären dann im Sinne eines Booster-Effektes zu erklären. Vom Patienten T. E. (Titer 1 : 2560) wurde uns freundlicherweise ein Stückchen von einer Probeexzision zur Verfügung gestellt. Die angelegte Zellkultur konnte leider nur bis zu der dritten Passage gezüchtet werden. Probefärbungen nach der ersten und zweiten Passage brachten weder mit dem eigenen Serum des Patienten, noch mit bekannt EBV-positiven Seren ein positives Ergebnis.

Recht eindeutig ist das Bild bei 30 untersuchten Fällen von akuten oder chronischen Leukämien. In der Altersgruppe unter 20 Jahren, zu welcher 21 der untersuchten Fälle zählen, finden sich nur bei 7 Kindern Antikörper, davon zeigt 1 Kind einen erhöhten Titer von 1 : 80, der auf eine frische Infektion zurückzuführen wäre. Diese Befunde lassen keinen Zusammenhang zwischen dem EB-Virus und Leukämie erkennen, denn die positiven Fälle entsprechen der natürlichen Durchseuchung in dieser Altersgruppe. In der Gruppe der über 20-jährigen, zu welcher 9 Patienten zählen, imponieren 3 Fälle mit einem sehr deutlich erhöhten Titer von 1 : 320. Hier muß es sich um ein akutes Infektionsgeschehen handeln. Interessant ist auch, daß für diese 3 Patienten die Differentialdiagnose "chronische Myelose" lautet. Betrachtet man den mittleren Titer von allen 30 untersuchten Fällen mit Leukämie, so liegt dieser mit 1 : 35 durchaus im Bereich der Norm. Wenn man die wenigen Ausnahmen von positiven Fällen in die Berechnung

Bei der jeweiligen Altersgruppen betrachtet, so kann man sagen, daß eine Beteiligung des EB-Virus bei der Genese von Leukämie höchst unwahrscheinlich ist.

In der Tabelle 7 sind 16 Kinder und 1 Erwachsener mit verschiedenen Arten von Tumoren zusammengestellt. Von diesen 17 Fällen sind 10 zur Diagnose Neuroblastom oder Hirntumor zu rechnen. In dieser Untergruppe zeigen überraschenderweise 5 Kinder (50 %) deutlich erhöhte Titer. Besonders auffällig sind die Titer von 1:320 bei 2 Knaben von 2 bzw. 3 Jahren. Bisher ist noch nichts über positive EBV-Antikörper beim Neuroblastom bekannt. Bei den übrigen Tumoren sind die Ergebnisse mit Ausnahme eines 12-jährigen Mädchens mit einem Osteosarkom (Titer 1:160) unauffällig.

Wie die Übersichtstabelle 2 zeigt, kommt der mit 1:60 mäßig erhöhte Gesamtdurchschnittstiter nur auf Grund der 5 positiven Fälle von Neuroblastom bei insgesamt 6 positiven Fällen in dieser Gruppe zustande.

Zusammenfassend kann sicher gesagt werden, daß das EB-Virus bei Erkrankungen des lymphoretikulären Systems im weitesten Sinne eine bedeutende Rolle spielt. Weitere Versuche in dieser Richtung auf einer breiteren Basis versprechen noch interessante Ergebnisse.

#### Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden Blutseren von Patienten mit verschiedenen Tumoren des lymphoretikulären Systems auf ihren Antikörpertiter gegen das Epstein-Barr-Virus untersucht. Das auffälligste Ergebnis zeigten 26 untersuchte Fälle von M.Hodgkin, von denen 96 % (25 Fälle) einen erhöhten Antikörpertiter ergaben. Von 13 untersuchten Fällen mit der Diagnose Petikulanzellsarkom zeigten 7 (53 %) einen deutlich erhöhten Titer. Bei 7 Fällen mit der Diagnose Lymphadenose fanden sich bei 6 Fällen (89 %) außergewöhnlich stark erhöhte Titer. 30 untersuchte Fälle mit der Diagnose Leukämie zeigten keine erhöhten Antikörpertiter gegen das EBV. Außerdem wurden 17 Fälle von nicht dem RES angehörigen Tumoren untersucht. In dieser Gruppe fallen 7 Fälle mit der Diagnose Neuroblastom auf, von denen 4 (60%) deutlich erhöhte Antikörpertiter zeigen.

Abschließend möchte ich mich bei Fräulein Nickl und Fräulein Gettrich für ihre freundliche Hilfe bedanken.

Literaturangaben

- (1) Weight, D.H., The Epidemiology of Burkitt's Tumor  
Cancer Research 11 : 474-481. 1961
- (2) Burkitt, D.B. Davies, S.M.P. Lymphoma Syndrome in  
Uganda and Tropical Africa. Med. Press  
245 : 367 - 9, 1961
- (3) Ten Seldam, R.E.J. Cooke, R. Atkinson, L : Childhood  
lymphoma in the territories of Papua and  
New Guinea Cancer (Philad.) 19, 437. 1966
- (4) Burkitt, D.u.G.T. o' Connor, Malignant Lymphom in  
African children. A clinical Syndrom  
Cancer (Philad.) 14, 258. 1961
- (5) Burkitt, D.B., Observations of the Geography of Malignant  
Lymphoma. E.African Med. Journal  
38 : 511 - 14. 1961
- (6) Studien an einem Burkitt-Lymphom  
W.M. Gallmeier, F.W. Göbel, W. Hartung, C.G. Schmidt. 1970
- (7) Rappaport H. Smith E.B. Childhood lymphoma resembling  
Burkitt's tumor in the U.S.  
Cancer (Philad.) 18, 411. 1965
- (8) Camain, Lambert D. Les hémato sarcomes de la face chez  
l'enfant en Afrique Rev. franc. Etud.  
Klin. biol. 10, 587. 1968
- (9) Epstein, M.A. Achong, B.G., Barr, J.M. Virus Particles  
in cultured Lymphoblasts of Burkitt Lymphomas.  
Lancet I, 702 - 703. 1964
- (10) G.u.W. Henle, Immunofluorescence in Cells derived  
from Burkitt Lymphoma.  
Journal of Bact. 91 : 1248-56. 1966
- (11) H. Strasser, Das Vorkommen von Antikörpern gegen das  
EB-Virus bei Kindern und Erwachsenen. 1971
- (12) C. Goetz, Das Burkitt-Lymphom
- (13) C. Goetz und P. Peller, Über das Epstein-Barr Virus  
M.M.W. 15/1970 702 - 705

- (14) W.M. Gallmeier, Ch. Hertenstein, C.G. Schmidt und  
E. Titzschkau, Vorkommen von Ak gegen das Burkitt-  
Virus (EB-Virus), Deutsche Medizinische Wochenschrift  
Nr. 24, 1297 - 1300, 1970
- (15) Gsell, H.O. Löffler, H.Müller. Serumantikörper  
gegen E.-B.-Virus bei Mononucleosis Inf.  
Schweiz. Med. Wochenschrift 100, Nr. 11  
495 - 500. 1970
- (16) Henle G. u. W. Effect with Arginine deficient Media  
of the Herpes Type Virus associated with  
cultured Burkitt's Tumor cells.  
Journal Virol. 2:182-91. 1966
- (17) Burchenal, J. Burkitt, D.B., Treatment of Burkitt's  
Tumor Springer, S. 24. 1967
- (18) Busby, D.W.G., House, W., Mc Donald, J.R.,  
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline.  
Virological Technique London, S.125. 1964.

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Otmar Goetz danke  
ich für die Überlassung des Themas sowie für seine dauern-  
de kritische Betreuung im Verlaufe der Arbeit.



## LEBENS LAUF

Ich wurde am 22.2.1945 in Leipzig geboren. 1948 zog ich mit meinen Eltern nach München. In München besuchte ich 4 Jahre die Volksschule, anschließend 6 Jahre eine Oberrealschule. Ab 1962 besuchte ich die Oberrealschule Prien, wo ich 1965 das Abitur ablegte. An der Ludwig Maximilian-Universität studierte ich 12 Semester Humanmedizin. Im Juni 1972 habe ich mein Studium mit dem Staatsexamen abgeschlossen.





